云 南 植 物 研 究 2003，25（6）：687～692
Acta Botanica Yunnanica

滇南红厚壳种子的脱水敏感性及其影响萌发的因子*

何惠英，宋松泉**
（中国科学院西双版纳热带植物园，云南 勐腊 666303）

摘要：滇南红厚壳（*Calophyllum polyanthum* Wall. ex Choisy）种子的千粒重约为 4 700 g，脱落时种子的含水量为 45%（鲜重），其存活率对脱水高度敏感；当种子含水量降至 30%以下时，存活率迅速下降；种子存活率的半致死含水量约为 23%；可以认为它是一种典型的顽拗性种子。含水量为 45%的种子，在 20～30℃的范围内，随着温度的升高种子萌发 50% 所需要的时间缩短；高于和低于这个温度范围（如 15℃，30℃），种子的萌发率均下降；变温处理有利于提高种子的萌发率和萌发速率。除去种皮和切除部分子叶能提高种子的萌发率、萌发速率，以及种子萌发后的早期幼苗生长量。光照明显地促进整粒种子的萌发，但对除去种皮的种子、具有 1/2 子叶的种子、以及胚轴的萌发没有影响。

关键词：滇南红厚壳；脱水敏感性；萌发特性；顽拗性种子
中图分类号：Q 945　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**0253－2700(2003)06－0687－06

Desiccation Sensitivity of *Calophyllum polyanthum* Seeds and Factors Affecting Their Germination*

HE Hui-Ying，SONG Song-Quan**
（*Xishuangbanna Tropical Botanical Garden*，*Chinese Academy of Sciences*，Mengla 666303，China）

Abstract：The weight of a thousand seeds of *Calophyllum polyanthum* was about 4 700 g. Their seeds were shed at water content of 45%，and seed survival was very sensitive to dehydration. The survival rapidly decreased as seeds were dehydrated to a water content of 30%，and water content in which 50% seeds were killed by dehydration was about 23%. It is considered that *C. polyanthum* seeds were a typical recalcitrant seed. When seeds which have water content of 45% were used as germination materials，the time taken for 50% of seeds to germinate decreased with increasing germination temperature under 20－30℃. Seed germination decreased as germination temperature was higher or lower than 20－30℃（e.g. 15℃，35℃）. Temperature fluctuation treatment could improve germination percentage and germination rate of seeds. Germination percentage and germination rate of seeds and early seedling growth produced by germinating seeds were increased by removing seed coat and by partially excising cotyledons. Light significantly increased germination of whole seed，and has no effect on germination of decoated seed，seed with 1/2 cotyledon and axis.

---

* 基金项目：中国科学院知识创新工程重要方向性项目（KSCX2－SW－117），中国科学院"百人计划"资助项目
** 通讯联系人
收稿日期：2003－05－19，2003－08－28 接受发表
作者简介：何惠英（1971－）女，研究实习员，主要从事种子生物学的研究。

Key words: *Calophyllum polyanthum*; Desiccation sensitivity; Germination character; Recalcitrant seed

滇南红厚壳（*Calophyllum polyanthum* Wall. ex Choisy），又名云南胡桐、云南横经席，属藤黄科（Guttiferae）；大乔木，树高约25 m，胸径可达1.2 m（中国科学院中国植物志编辑委员会，1990；中国科学院昆明植物所，1991）。自然整枝良好，树干通直圆满，出材率高；其木材纹理直，结构较细而均匀，木质软硬适中、强度中等，耐腐能力强。滇南红厚壳在原产地是老百姓建房、做家具最喜爱用的树种之一（叶如欣等，1999）。

滇南红厚壳在我国主要分布于云南南部的西双版纳、思茅、临沧等海拔600～2 000 m的热带山地雨林和热带雨林中，老挝、缅甸、印度等也有分布。随着生境的改变及当地百姓对其偏爱性采伐利用，目前其野生自然资源已十分稀少，仅在一些保护区及国有林内有零星的团状分布，已是濒危及受威胁的物种之一（李延辉等，1996），被列为国家三级保护植物（陈灵芝，1993）。

红厚壳属（*Calophyllum*）植物大多含有吡喃类香豆素化合物，该类化合物多具有抗HIV活性，其中calanolida A、calanolida B、inophyllum A、inophyllum P等具有明显的抑制HIV逆转录酶的作用，且其毒性低、安全性好，是目前抗艾滋病的热点先导物，有望成为治疗艾滋病的新一代非核苷酸类药物（陈纪军等，2001）。因此，红厚壳属植物种质资源的保存就成为人们日益关心的问题。但到目前为止，有关红厚壳属植物种子的研究报道极少。本文以滇南红厚壳种子为材料，研究了种子的脱水敏感性及其影响萌发的因子。

1 材料与方法

滇南红厚壳（*Calophyllum polyanthum* Wall. ex Choisy）果实于2002年5月初采于西双版纳景洪市大勐龙镇勐宋村。果实采摘后立即运回实验室。种子经剥取和清洗后，用1%次氯酸钠表面灭菌30 min、无菌水清洗3次，然后晾干表面水分，置于15℃下备用。

1.1 果实和种子大小的测定

随机取成熟果实100个，均分为两份。其中50个用于果实大小和重量的测定；另外50个用于剥取种子，测量种子的大小。用0.0001 g的电子天平称重，0.5 mm的游标卡尺测量长度。

1.2 种子脱水处理

将种子单层置于土壤筛内，然后放在含有活性硅胶的干燥器中进行不同时间的脱水，获得含水量不同的种子。

1.3 含水量的测定

种子脱水处理后，随机取3粒种子，切成1 mm薄片，103℃烘17 h后，以鲜重为基础计算含水量。5次重复。

1.4 种子萌发率和存活率的测定

分别将新鲜种子、脱水处理后含水量不同的种子、切除部分子叶的种子、以及离体胚轴播种于1%的琼脂培养基（不含任何营养成分）上，然后置于25℃、光照14 h/d的条件下进行萌发（未灭菌），21 d后分别统计萌发率，存活率和幼苗生长量。5次重复。整粒种子、去种皮的种子和切除部分子叶的种子以胚根突破种皮2 mm计为萌发；胚轴以胚根伸长2 mm计为存活。

1.5 种子的平均萌发时间

种子的平均萌发时间（d）$=\sum n_i d_i / \sum n_i$，其中n_i表示第i天萌发的种子数；d_i表示萌发的天数。

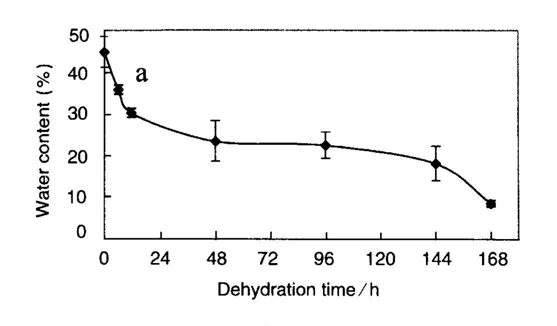
2 结果

2.1 果实和种子的大小及重量

滇南红厚壳的果实和种子均为椭球形。果实大小为 34.86 ± 2.67 × 28.02 ± 1.96 mm，单果重 13.454 ± 2.684 g；种子大小为 25.04 ± 1.74 × 19.01 ± 1.64 mm，单粒重 4.716 ± 1.178 g。滇南红厚壳种子由种皮、子叶和胚轴组成。

2.2 脱水处理对种子存活率的影响

滇南红厚壳种子的初始含水量约为 45%。随着脱水进程，种子的含水量开始迅速下降，然后缓慢降低（图 1a）；而种子的存活率在脱水初期缓慢下降，当含水量降至 30%以下时，则迅速降低（图 1b）；种子存活率下降 50%（半致死）的含水量约为 23%（图 1b）；种子对脱水高度敏感。



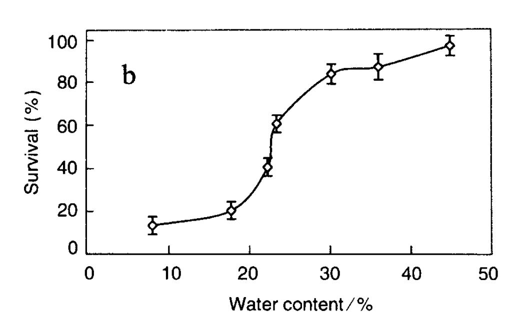


图 1　滇南红厚壳种子脱水过程中含水量（a）和存活率（b）的变化。种子在活化硅胶中脱水的时间和含水量，然后置于 25℃、光照 14 h/d 的条件下萌发 21 d。以胚根突破种皮 2 mm 计为存活。所有的数据为 5 次重复的平均值 ± 标准差。

Fig. 1　Changes of water content (a) and survival (b) during dehydration of *Calophyllum polyanthum* seeds. Seeds were dehydrated for indicated time and to a water content, and then germinated at 25℃ and in alternating light and dark with 14 h photoperiod for 21 days. Seeds showing radicle emergence for 2 mm were scored as survived. All values are means ± SD of five replicates.

2.3 温度对种子萌发速率的影响

温度显著地影响滇南红厚壳种子的萌发率（图 2a）和萌发速率（图 2b）。含水量为 45%的种子在 20℃、25℃、30℃、30℃ 30/20℃（6：00 ~ 20：00 为 30℃有光照，其余时间为 20℃无光照，下同）和 35℃条件（HPG – 280B 光照培养箱，哈尔滨医疗器械厂）下萌发，种子萌发 50%所需要的时间分别是 102 d、84 d、63 d、42 d 和 23 d；当温度为 15℃时，萌发 126 d 时的萌发率仍然为 3%（图 2b）。以最终萌发率作为参数，则适宜萌发的温度顺序是 30/20℃ > 25℃ > 30℃ > 20℃ > 35℃ > 15℃，但即使是在 30/20℃下，种子的最终萌发率也只有 80%（图 2b）。

将种子的两片子叶分别切除一半后，具有 1/2 子叶的种子（含胚轴的半粒种子）的萌发率（图 2a）和萌发速率（图 2c）比整粒种子高得多。在 15℃、20℃、25℃、30℃、30/20℃和 35℃的条件下，具有 1/2 子叶的种子萌发 50% 所需要的时间分别是 12 d、3.0 d、2.5 d、2.0 d、2.5 d 和 6.5 d；而且，当萌发温度为 20℃、25℃、30℃和 30/20℃时，在萌发的第 5 d，具有 1/2 子叶的种子的萌发率均达到 100%；15℃和 35℃对具有 1/2 子叶的种子的萌发有抑制作用（图 2c）。

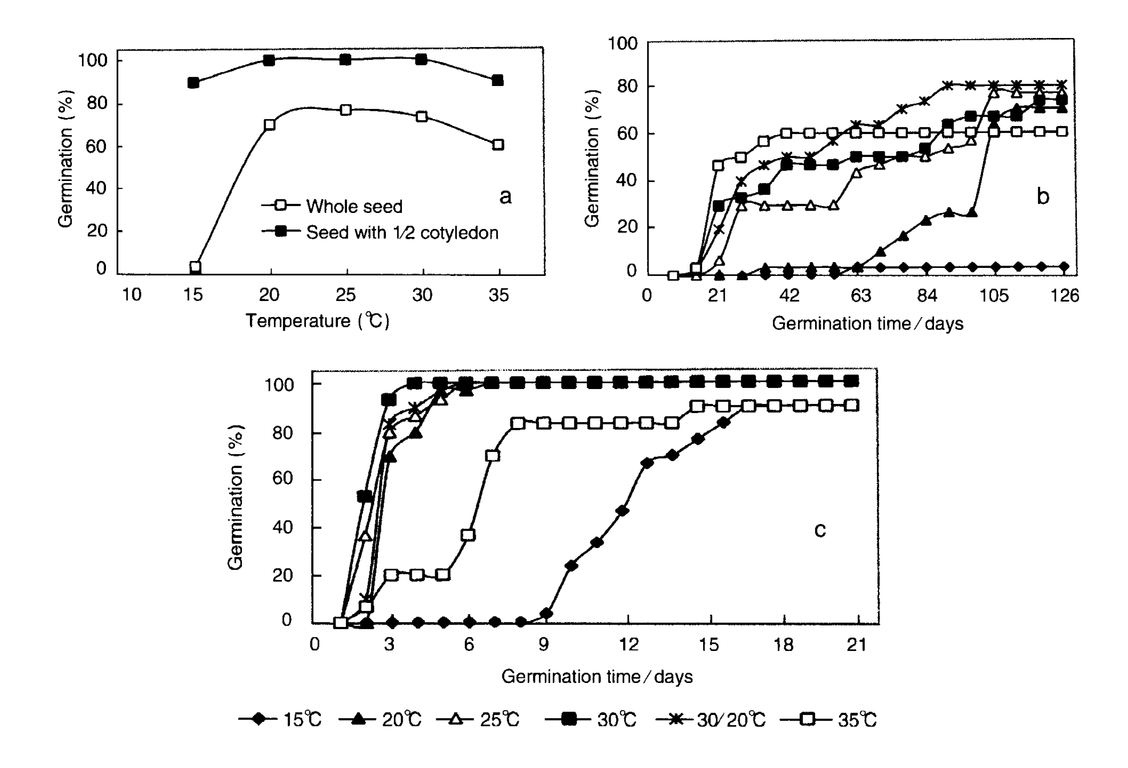


图 2 温度对滇南红厚壳种子的萌发率（a）和萌发速率（b，整粒种子；c，具有 1/2 子叶的种子）的影响。未脱水的整粒和具有 1/2 子叶的种子分别播种于 1% 琼脂培养基上，然后置于不同的温度、光照 14 h/d 下萌发的时间。以胚根突破种皮 2 mm 计为萌发。图 b 和 c 中的符号是相同的。所有的数据为 5 次重复的平均值。

Fig.2 Effect of temperature on germination (%) (a) and germination rate (b, whole seed; c, seed with 1/2 cotyledon) of *Calophyllum polyanthum* seeds. Whole seed and seed with 1/2 cotyledon, which were not dehydrated, were germinated on 1% agar at different temperature and in the alternating light and dark with 14 h photoperiod for indicated time. Seeds showing radicle emergence for 2 mm were scored as germinated. All marks in Figure b and c are the same. All values are means of five replicates.

2.4 种皮和子叶对种子萌发的影响

在滇南红厚壳种子中，胚轴的周围结构（surrounding structure）包括种皮和子叶。将新鲜种子洗净和晾干表面水分后，分别除去种皮、切除部分子叶（指同时将两片子叶部分切除）和剥取胚轴，然后观察种皮和子叶对种子和胚轴萌发/生长的影响。结果表明，除去种皮和切除部分子叶的种子，以及离体胚轴的萌发率和萌发速率迅速增加（表 1）。例如，

表 1 种皮和子叶对滇南红厚壳种子萌发的影响

Table 1 Effect of seed coat and cotyledon on germination of *Calophyllum polyanthum* seeds

Treatment	Whole seed	Decoated seed	Seed with 3/4 cotyledon	Seed with 1/2 cotyledon	Seed with 1/4 cotyledon	Axes
Germination (%)	30	78 ± 18.33	100	100	100	100
Mean germination time (d)	21.0 ± 1.8	8.7 ± 1.4	5.7 ± 0.4	5.0 ± 0.3	4.2 ± 0.4	4.2 ± 0.2

整粒种子、切除部分子叶的种子和离体胚轴分别播种于 1% 琼脂培养基上，然后置于 30℃、暗中萌发。种子以胚根突破种皮 2 mm 计为萌发，胚轴以胚根伸长 2 mm 计为萌发。所有的数据为 5 次重复的平均值 ± 标准差。

Whole seed and seed with partial cotyledon were germinated on 1% agar at 30℃ and in the dark. Seeds showing radicle emergence and axes showing radicle elongation for 2 mm were scored as germinated. All values are means ± SD of five replicates.

整粒种子播种后 21 d，其萌发率为 30%；而切除 1/4 子叶的种子播种后 6 d，其萌发率就达 100%。切除部分子叶的种子的幼苗生长量也比整粒种子和除去种皮的种子明显增加（表 2）。

表 2　种皮和子叶对滇南红厚壳种子萌发后早期幼苗生长的影响

Table 2　Effect of seed coat and cotyledon on early seedling growth after germination of *Calophyllum polyanthum* seeds

Treatment	Shoot length (cm/plant)	Root length (cm/plant)	Fresh weight of seedling (g/50 plants)	Dry weight of seedling (g/50 plants)
Decoated seed	1.06 ± 0.64	2.0 ± 0.68	1.11	0.18
Seed with 3/4 cotyledon	5.34 ± 0.71	4.23 ± 0.25	5.44	0.94
Seed with 1/2 cotyledon	3.59 ± 0.36	3.56 ± 0.13	3.35	0.62
Seed with 1/4 cotyledon	1.95 ± 0.28	2.35 ± 0.44	1.99	0.33
Axis	1.95 ± 0.27	2.38 ± 0.43	0.83	0.14
Whole seed	----	----	----	----

整粒种子、切除部分子叶的种子和离体胚轴的萌发与表 1 相同。所有的数据为萌发 21 d 的统计结果。茎和根的长度为 5 次重复的平均值 ± 标准差，幼苗的鲜重和干重为除去子叶的 50 株幼苗的平均值。----，表示未测定

Germination of whole seed, seed with partial cotyledon and axis were the same as Table 1. All data are from seedling germinated for 21 d. Length of shoot and root is mean ± SD of five replicates. Fresh and dry weight of seedling is mean of 50 plants, but does not include cotyledon weight. ----, non-determined

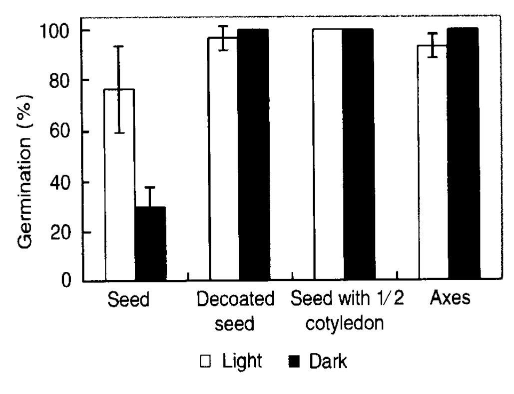


图 3　光照对整粒种子、除去种皮的种子、具有 1/2 子叶的种子和胚轴萌发的影响。整粒种子、除去种皮的种子、具有 1/2 子叶的种子和胚轴分别播种于 1% 琼脂培养基上，然后置于 30℃、光（14 h 光/10 h 暗）或者暗（24 h 暗）中萌发 21 d。种子以胚根突破种皮 2 mm 计为萌发，胚轴以胚根伸长 2 mm 计为萌发。所有的数据为 5 次重复的平均值 ± 标准差。

Fig. 3　Effect of light on germination of whole seed, decoated seed, seed with 1/2 cotyledon, and axis. Whole seed, decoated seed, seed with 1/2 cotyledon and axis were germinated on 1% agar at 30℃ and in the light (14 h light/10 h dark) or dark (24 h dark) for 21 d. Seeds showing radicle emergence and axes showing radicle elongation for 2 mm were scored as germinated. All values are means ± SD of five replicates.

2.5　光照对种子和胚轴萌发的影响

整粒种子的萌发率在 14 h/d 光照下比在黑暗中迅速得多，例如，整粒种子播种后的第 21 d，14 h/d 光照下的种子萌发率是全黑暗中的 256%；但是同样的光照处理对除去种皮的种子、具有 1/2 子叶的种子、以及离体胚轴的萌发率没有影响（图 3）。

3　讨论

Roberts（1973）根据种子的贮藏行为（storage behavior）将种子分为正常性种子（orthodox seed）和顽拗性种子（recalcitrant seed）。种子的贮藏行为包括种子脱落后对水分和低温的反应，以及贮藏寿命。正常性种子在母株上经历成熟脱水，种子脱落时含水量较低，通常能被进一步干燥到 1% ~ 5% 的含水量而不发生伤害；以及根据贮藏条件能够预测其寿命。顽拗性种子不经历成熟脱水，种子脱落时含水量相对较高，在整个发育过程中不耐脱水，通常对低温敏感；在适合正常性种子贮藏的条件下，其贮藏寿命通常只有几天到几个星期（Pammenter and Berjak,

1999；Berjak and Pammenter，2001）。滇南红厚壳种子的千粒重约为4 716 g；脱落时的种子含水量较高，约为45%；种子的半致死含水量约为23%（图1b），对脱水高度敏感；说明滇南红厚壳种子是一种典型的顽拗性种子，结果与Hong等（1996）根据Dent（1948）的工作所作的判断一致。

种子的萌发率（图2a）和萌发速率（图2b）显著地受温度的调节。在20～35℃的范围内，随着温度的升高种子萌发50%所需要的时间缩短，说明温度是影响种子萌发的重要因子之一。种子萌发包含一系列的酶促反应，这些反应都受温度的调控（Bewley，1997）。变温（白天，30℃/晚上，20℃）有利于提高种子的萌发率和萌发速率（图2b），可能是由于滇南红厚壳种子的萌发长期适应原生境的结果。在滇南地区，白天的温度较高，晚上的温度则较低。但变温处理提高种子的萌发率和萌发速率的生理基础仍然不清楚。

在15～35℃的范围内，具有1/2子叶的种子的萌发率（图2a）和萌发速率（图2c）远远高于整粒种子；除去种皮和切除部分子叶的种子，以及离体胚轴的萌发率和萌发速率比整粒种子高（表1）；以及切除部分子叶的种子在萌发后的早期幼苗生长量也比整粒种子和除去种皮的种子明显增加（表2）；这些结果表明在滇南红厚壳种子中的种皮和子叶对种子的早期萌发生长具有抑制作用；但其原因不清楚，可能是种皮限制了水分和氧气的渗透，以及子叶中存在萌发抑制物质。整粒种子的萌发率在光照下比在黑暗中迅速得多，而同样的光照处理对除去种皮的种子、具有1/2子叶的种子、以及离体胚轴的萌发率没有影响（图3）；光照的作用方式不清楚，有待进一步研究。

滇南红厚壳种子含有抗HIV的活性化合物，具有潜在的重要应用价值，但对脱水非常敏感；因此，深入研究其脱水敏感性的生理基础，以及种子发育、成熟脱水和萌发过程中抗HIV的活性化合物的变化，对于其种质资源的长期保存、开发和利用都具有重要意义。

〔参 考 文 献〕

中国科学院中国植物志编辑委员会，1990．中国植物志，第50卷第2分册［M］．北京：科学出版社，84—86

中国科学院昆明植物研究所，1991．云南植物志第5卷［M］．北京：科学出版社，143—147

叶如欣，莫树门，邹寿青，1999．中国云南阔叶树及木材图鉴［M］．昆明：云南大学出版社，97—98

李延辉，裴盛基，许再富，1996．西双版纳高等植物名录［M］．昆明：云南民族出版社，171

陈灵芝，1993．中国的生物多样性现状及其保护对策［M］．北京：科学出版社，89

Berjak P，Pammenter NW，2001．Seed recalcitrance-current perspectives［J］．*South African J Bot*，**67**：79—89

Bewley JD，1997．Seed germination and dormancy［J］．*Plant Cell*，**9**：1055—1066

Chen JJ（陈纪军），Xu M（许敏），Luo SD（罗士德），*et al*，2001．Chemical constituents of *Calophyllum polyanthum*［J］．*Acta Bot Yunnan*（云南植物研究），**23**：21—526

Dent TV，1948．Indian Forest Records．Silviculture．Vol．7，No 1．Seed Storage，the Particular Reference to the Storage of Seed of Indian Forest Plants［M］．Delhi：The Manager of Publications

Hong TD，Linington S，Ellis RH，1996．Seed Storage Behavior：a Conpendium．Handbooks for Genebanks No 4［M］．Rome：International Plant Genetic Resources Institute

Pammenter NW，Berjak P，1999．A review of recalcitrant seed physiology in relation to desiccation-tolerance mechanisms［J］．*Seed Sci Res*，**9**：13—37

Roberts EH，1973．Predicting the storage life of seeds［J］．*Seed Sci & Technol*，**1**：499—514